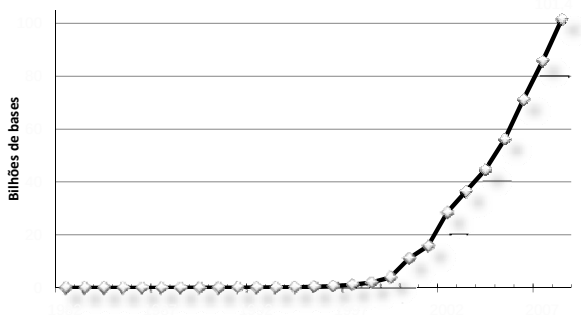
# Projetos Genoma

MO640A - Biologia Computacional

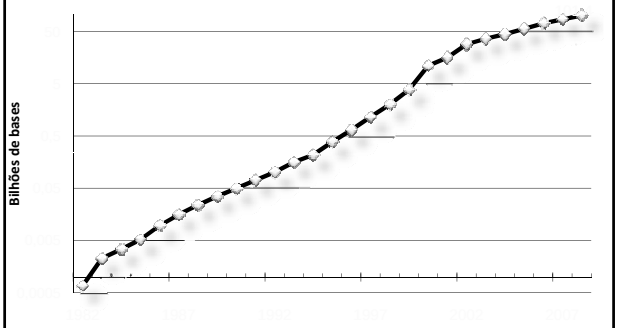
*Felipe Rodrigues da Silva*

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*

## GenBank 2008

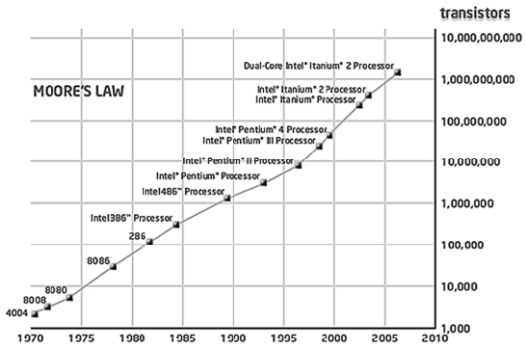



## GenBank 2008



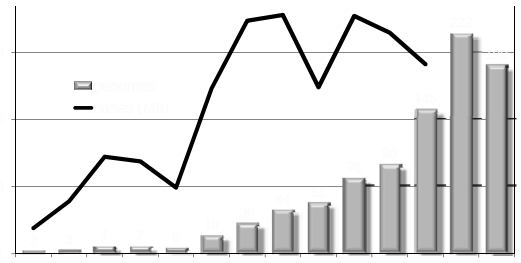

*ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/release.notes/*

## Lei de Moore




*http://www.intel.com/technology/mooreslaw/index.htm*

## Genomas Publicados

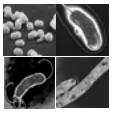


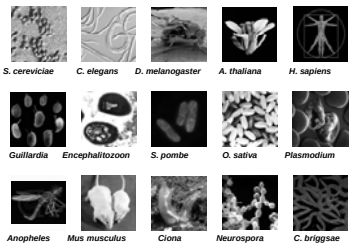
*http://www.genomesonline.org/*

## Genomas Completos (jan 2009)

**916**

- Procariotos **761+55**
  - *Nanoarchaeum* 490 Kb*
  - Mycoplasma 580 Kb
  - *Bradyrhizobium* 9,105 Kb
- Eucariotos **100**





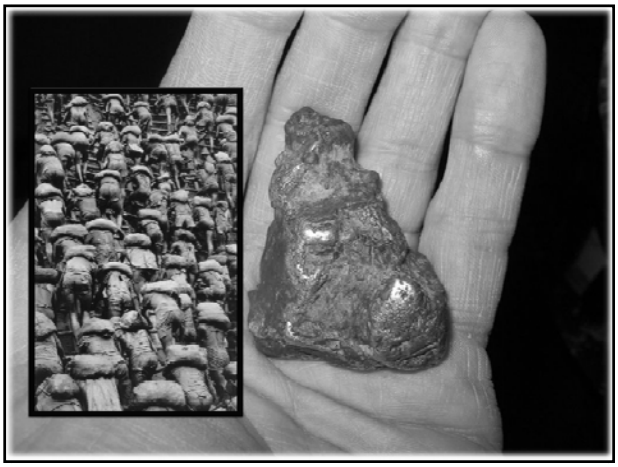
## Genomas em Andamento

(jan 2009)

**3.317**

- **Procariotos** **2.306**
- **Eucariotos** **1.011**
  - Protozoa (*Trypanosoma cruzi*)
  - Algae (*Chlamydomonas*)
  - Fungy (*Candida albicans*)
  - Nematodes (*Ascaris suum*)
  - Plants (Maize, Wheat , Tomato, Cotto, Soy beam)
  - Insects (*Aedes egypti, Apis mellifera*)
  - Amphibious (*Xenopus*)
  - Birds (chicken)
  - Mammals (cow, dog, pig)

Mais 304 ESTs, 75 RSTs
e 137 Metagenomas…...



## Projeto Genoma

Estrutural

Sequenciamento Completo do Genoma

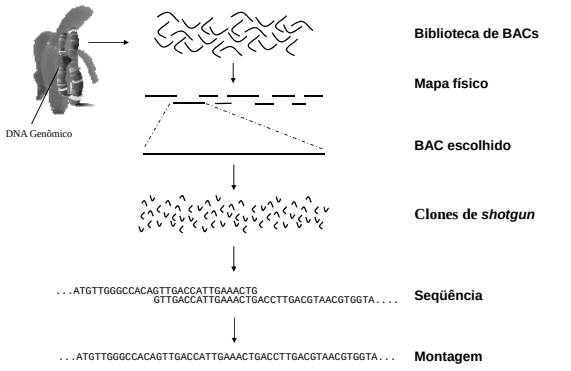
– Região Gênica e Região Intergênica

Funcional

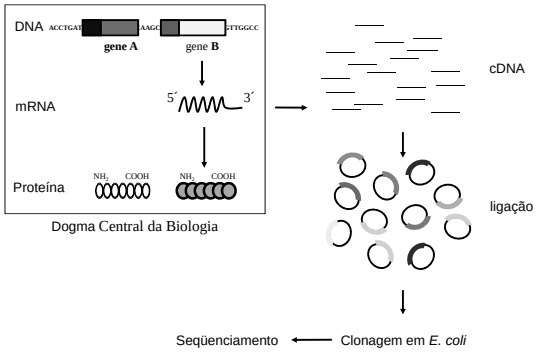
EST – *Expressed Sequence Tag*

–Regiões que codificam proteínas (Genes)

## Seqüenciamento Completo

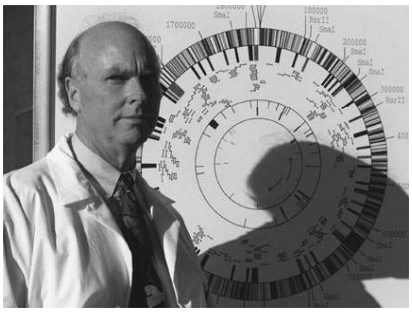



## EST – *Expressed Sequence Tag*

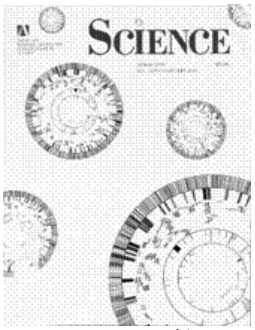


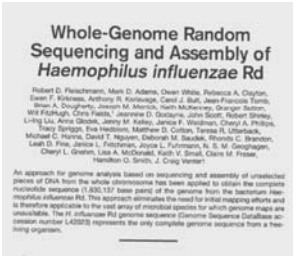

Dogma Central da Biologia

## 1995: TIGR
### *Primeiro genoma completo*



## 1995: TIGR
### *Primeiro genoma completo*




28 de Julho de 1995

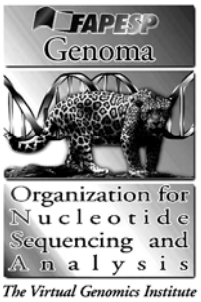
*Fleichmann et al. (1995), Science 269:496*

**Bactéria**
1,6 Mb - 1.700 genes

| 1997 | 1998 | 2000 | 2000 | 2000 |
|---|---|---|---|---|
| Eukaryote | Animal | Insect | Plant | Bacteria – Plant pathogen |
| 13 Mb - 6.000 genes *[Nature 387:1]* | 100 Mb - 18.000 genes *[Science 282:1945]* | 130 Mb - 13.000 genes *[Science 287:2185]* | 120 Mb - 26.000 genes *[Nature 408:791]* | 2,6 Mb - 3.000 genes *[Nature 406:151]* |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| **2001** | **2001** | **2002** | **2002** | **2002** |
| Human | Human | Plant | Parasite - Host | Mouse |
| 3,2 Gb - 40.000 genes *[Science 291:1304]* | 3,2 Gb - 40.000 genes *[Nature 409:745]* | 420 Mb - 35.000 genes *[Science 296:79]* | 23 Mb - 5.300 genes *[Nature 419:498]* 278Mb – 14.000 genes *[Science298:129]* | 2,5 Gb - 30.000 genes *[Nature 420:520]* |

## A Rede ONSA

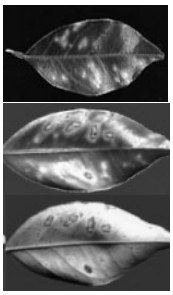
- *Xylella fastidiosa*
- *Xanthomonas axonopodis pv citri*
- Sugar Cane EST
- Human Cancer EST
- *Xanthomonas campestris*
- AEG
  - *X. fastidiosa* / Pierce's Disease
  - *Leifsonia xyli subsp. Xyli*
  - *eucalipto*



FAPESP

Genoma Xylella

## CVC
*clorose variegada dos citros*



## Alguns vetores de *X. fastidiosa*

*Dilobopterus costalimai*

*Acrogonia terminalis*

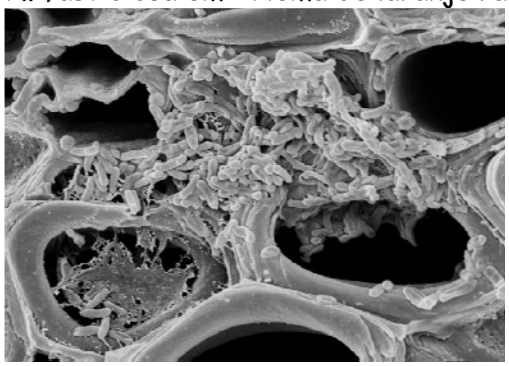
*Oncometopia facialis*

*Homolodisca ignorata*

*Bucephalogonia xanthopis*

*Macugonalia sp*

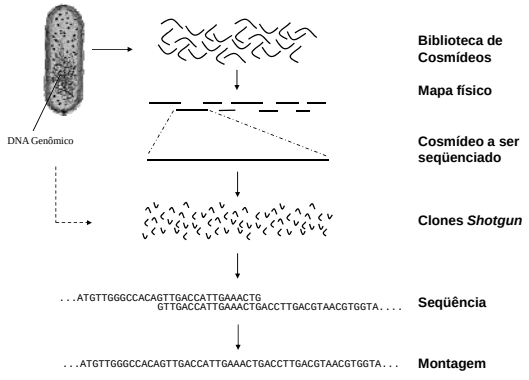
## *X. fastidiosa* em xilema de laranjeira



## Genomas

- Seqüenciamento
- Montagem
- Análise
- Anotação
- Pós-genoma

## Seqüenciamento Completo



## Estratégia de seqüenciamento

- Pequena escala
  - Leitura única
  - Deleções sucessivas
  - Subclonagem
  - *Primer walking*
  - *shotgun*

## Shotgun

- Amostrar fragmentos da seqüência-alvo da maneira mais aleatória possível.
- Determinar a maior porção possível das seqüências das extremidades destes fragmentos

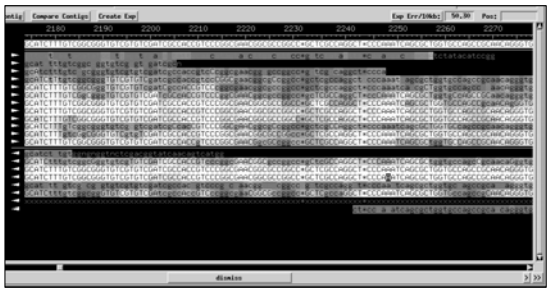
Sanger F, Coulson AR, Hong GF, Hill DF, Petersen GB. (1982) **Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA**. *J Mol Biol* 162(4): 729-73.

## Montagem shotgun


## Montagem

- *Trimming* (corte)
  - fixo
  - por ambiguidade
  - por qualidade
- Consenso
  - inclusivo (código de ambiguidades)
  - por freqüencia
  - por qualidade

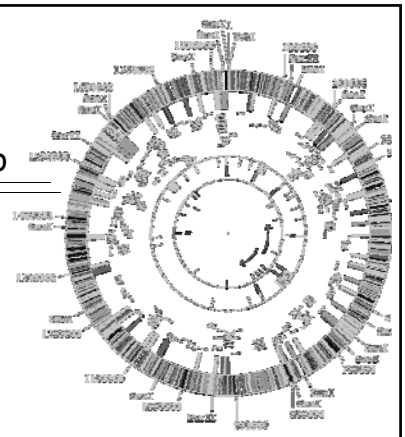
## Montagem com *phrap*



## Análise

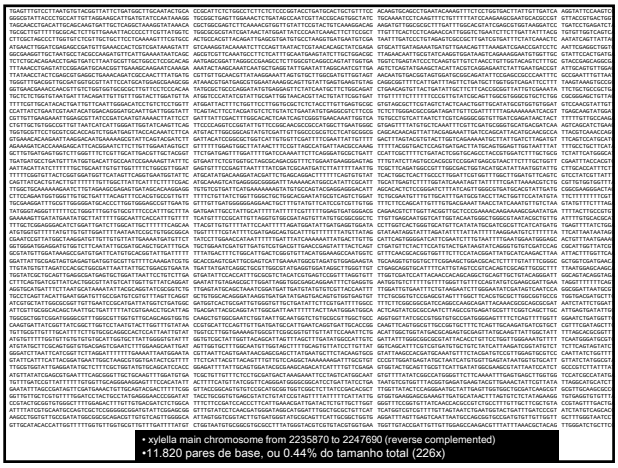
- Reads
  - sem dados
  - ruins
  - errados
  - vetor
  - hospedeiro
- Montagem
  - gaps
  - conflitos
  - quimeras/deleções
- Checagem de co-linearidade

## Anotação



## Anotação

- ORFs
  - localização
  - identificação
- RNAs
- Seqüências regulatórias



• xylella main chromosome from 2235870 to 2247690 (reverse complemented)
•11.820 pares de base, ou 0.44% do tamanho total (226x)

## Predição de genes

- Esta seqüência é codificadora?
- Como o gene X está organizado?

## Anotação

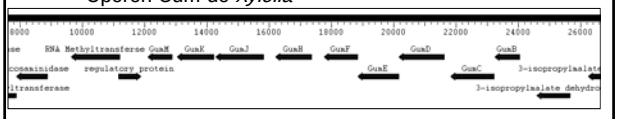
- Que vias metabólicas estão presentes neste organismo?
- O que ele é capaz de fazer?
- O que ele <u>não</u> é capaz de fazer?

## Predição de genes é difícil

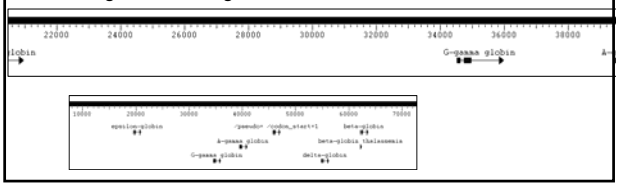
- Sinais nas seqüências de DNA tem baixo conteúdo de informação
  - Degenerado, altamente inespecífico
- Discriminção dos sinais verdadeiros é complicado
- Erros de seqüenciamento

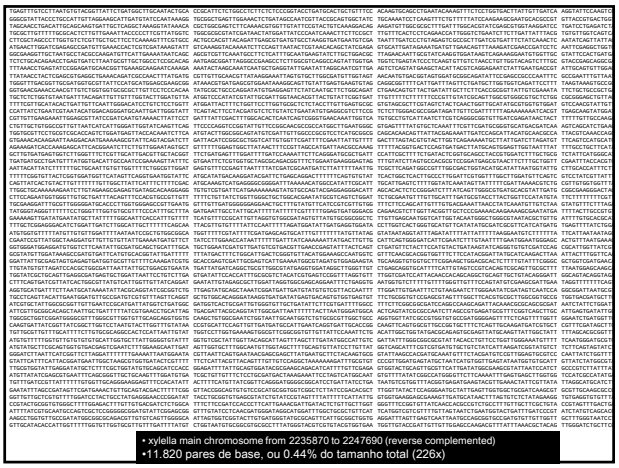
# Organização dos genomas

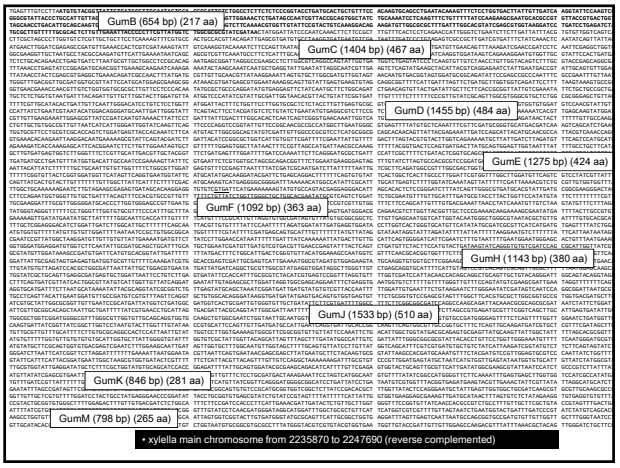
- Operon Gum de *Xylella*



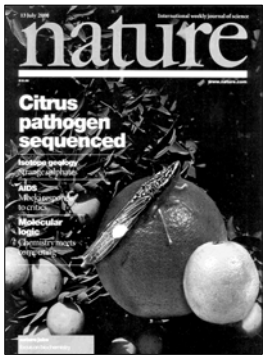

- Região da beta globina humana no cromossomo 11




# O genoma publicado de *Xylella fastidiosa*



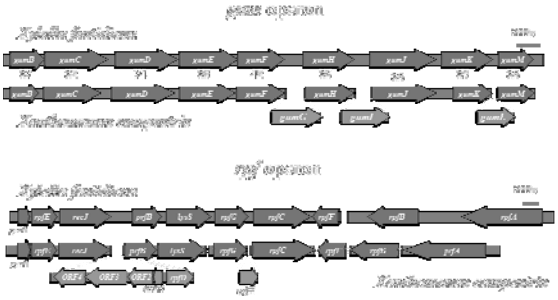

- Mar/98 – Jan/00
- 2,7 Mbp
- 2,904 ORFs

***Nature, (July 13, 2000) 406:151-157.***

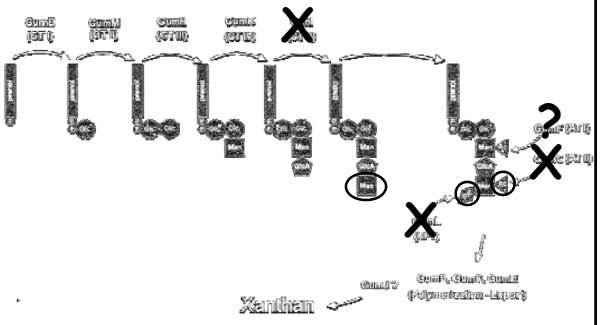
# Grupo do genoma da *Xylella*

http://aeg.lbi.ic.unicamp.br/xf/

## Mapa genético dos operons *gum* e *rpf*



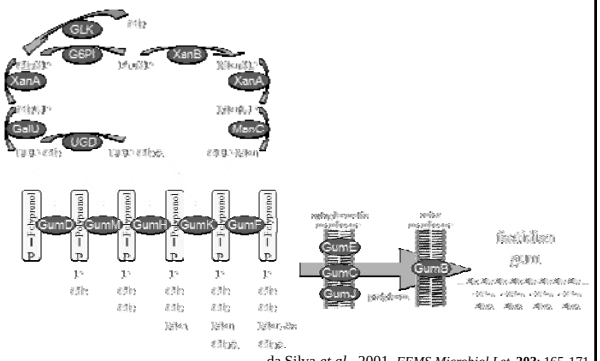
## Via sintética da goma xantana



Katzen *et al.*, 1998. *J Bacteriol* **180** (7): 1607-1617

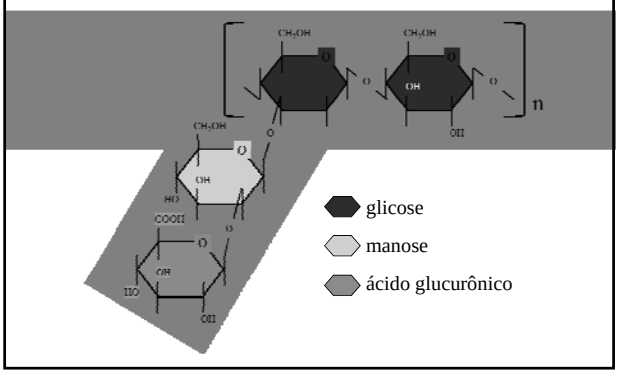
| classe | gene ID | gene homologo | identidade | função |
|---|---|---|---|---|
| Regulador | XF0287 | *rpfB* | 72.3 | regulatory protein (DSF) |
| Regulador | XF0290 | *rpfA* | 80.0 | aconitase |
| Regulador | XF1109 | *rpfE* | 65.2 | regulatory protein |
| Regulador | XF1113 | *rpfG* | 77.0 | two-component system, regulatory protein |
| Regulador | XF1114 | *rpfC* | 60.0 | fused two-component sensor-regulator protein |
| Regulador | XF1115 | *rpfF* | 65.7 | regulatory protein (DSF) |
| Precursor | XF0232 | *pgi* | 79.1 | glucose-6-phosphate isomerase |
| Precursor | XF0259 | *xanB* | 84.5 | phosphomannose isomerase-GDP-mannose pyrophosphorylase |
| Precursor | XF0260 | *xanA* | 84.8 | phosphoglucomutase /phosphomannomutase |
| Precursor | XF1064 | *glk* | 41.4 | glucose kinase |
| Precursor | XF1460 | *glk* | 32.7 | glucose kinase |
| Precursor | XF1606 | *algD* | 66.1 | UDP-glucose dehydrogenase |
| Precursor | XF2432 | *gtaB* | 81.8 | UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase |
| EPS-sint | XF2360 | *gumM* | 63.1 | GumM protein |
| EPS-sint | XF2361 | *gumK* | 68.7 | GumK protein |
| EPS-sint | XF2364 | *gumH* | 64.7 | GumH protein |
| EPS-sint | XF2365 | *gumF* | 41.9 | GumF protein |
| EPS-sint | XF2367 | *gumD* | 73.6 | GumD protein |
| EPS-exp | XF2362 | *gumJ* | 62.7 | GumJ protein |
| EPS-exp | XF2366 | *gumE* | 59.9 | GumE protein |
| EPS-exp | XF2369 | *gumC* | 61.2 | GumC protein |
| EPS-exp | XF2370 | *gumB* | 67.1 | GumB protein |

## Via sintética da goma fastidiana

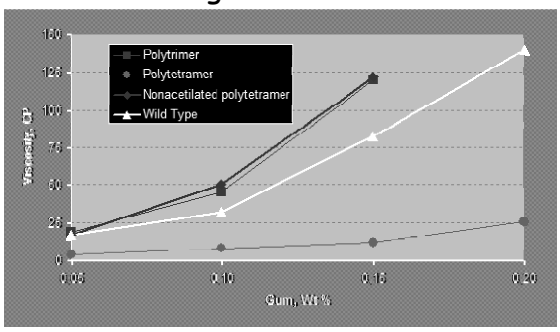



da Silva *et al.*, 2001. *FEMS Microbiol.Let.* **203**: 165-171

## Possível estrutura da goma fastidiana




## Viscosidades de polímeros derivados da goma xantana




Hassler & Doherty, 1990. *Biotechnol. Prog.* **6** (3): 182-187

## Grupo Genoma - CBMEG

www.laerte.com.br


http://www.cenargen.embrapa.br/~felipes/

*felipes@cenargen.embrapa.br*